익모초(*Leonurus sibiricus*) 추출물의 생리활성
Biological Activity of *Leonurus sibricus* extract

이계원, 여진숙, 유경화, 이지혜, 조영호(건양대학교)

차 례

1. 서론
2. 실험방법
3. 결과 및 고찰
4. 결론

■ keyword : | 익모초, 항산화 활성, 항노화 활성, 항균 활성 |

1. 서론

익모초(*Leonurus sibiricus*)는 꿀풀과에 속하는 두해살이풀이며 약물로는 신농본초경 상품에 충울(茺蔚)로 처음 기재되어 있다. 한국, 중국, 일본 등 각지에서 잘 자라며 우리나라에서는 특별히 재배는 하지 않고 야생하는 것을 채집 시판하고 있으며, 전국 각지에 자생하고 암눈비앗 또는 충위라고도 한다[1].

익모초는 여자들에게 이로운 풀이란 뜻이며, 종류로는 서양의 익모초 *L. cardiaca*, 동양의 익모초 *L. sibiricus*, *L. japonicus*, *L. heterophyllus*, *L. mansharicus* 등이 수재되어 있다. 하지만 서지학적 연구에 의하면 모두 같은 종으로 보이며 흰 꽃이 피는 *L. heterophyllus fleucanthus*와 토이기익모초라 불리는 *L. turkestanicus* 만이 일반 익모초와는 다른 종류로 알려져 있다[2].

이 약초는 네모난 줄기를 특징으로 하며 여기에 달린 잎과 꽃으로 되어 있고 줄기는 길이 30-60 cm, 지름 1~5 mm이고 황록색에서 녹갈색을 띠며 흰 짧은 털이 밀생되어 있다. 줄기의 꺾은 면에는 흰색의 커다란 수가 있고 질은 가볍다. 잎은 3심열~전열로 줄기에 대생으로 붙어 있고 상면은 엷은 녹색을 띠며 하면은 흰색의 짧은 털이 밀생하고 회녹색이다. 꽃은 엽액에 윤생으로 밀생되고 꽃받침은 통상으로 끝이 5갈래로 갈라지며 엷은 녹색~녹갈색이다. 꽃잎은 순형으로 엷은 적자색~갈색이다. 꽃이 피었을 때 지상부를 *Leonuri Herba*라 한다. 열매는 6월에 성숙되며 분과는 5분과이고 넓은 난형이며 약간 편평하고 3개의 능각이 있으며 털이 없고 꽃받침 속에 들어있으며, 우리나라 전국 각처의 원야지 인가 부근 빈터 및 밭둑 등에 자생한다[3].

익모초의 주성분으로는 전초에 alkaloid로서 leonurine, leonuridine, strachydrine, stachynose, flavonoid로서 rutin 그 외에 protocathecol, benzioc acid를 비롯해 비타민 A와 지방유 등이 보고되어 있으며[4, 5], 약효로는 전초를 한방에서 산후의 출혈, 월경불순에 사용하며, 종자는 월경불순, 시력보호 목적으로 사용하며, 우리나라에서 가장 많이 사용하고 있는 민간약 중의 하나이다[6].

익모초에 대한 국내연구로서는 1984년 신이 익모초의 약효성분에 관한 연구[4], 1986년 이 등이 익모초 녹즙이 흰쥐의 위액 분비에 미치는 영향[5], 1996년 안 등이 아플라톡신에 대한 익모초의 돌연변이 억제효과[7], 1999년 김 등이 익모초 추출액이 간장에 미치는 영향[1], 2001년 홍 등이 익모초로부터 Leonurine의 분리 및 함량분석에 관한 연구[8]를 실시 보고하였다. 현재까지 익모초에 관한 연구는 유효성분의 규명이나 약리적 효능을 중심으로 진행되어 왔다[9].

과학의 발달로 인하여 여러 우수한 성분 및 소재들이 개발되어 피부에 대한 효과가 커져가고 있으며 그로 인해 주름개선과 미백 등의 피부효능을 위한 기능성 화장품의 개발이 확산되고 있고 노령인구의 증가로 인한 다양한 소비자층의 확대와 미용 및 의료기술의 발전, 건강하고 아름다운 피부를 원하는 소비자들의 관심 증가 등으로 인해 상업계의 주요 관심분야가 되었다. 또한 천연유래의 원료들은 효능과 안전성 면에서 기존 제품보다 뛰어난 장점을 지니고 있기 때문에 피부주름개선, 미백 등 각종 기능성 화장품 개발에 활발히 이용되고 있다.

따라서 본 연구에서는 익모초의 화장품 원료로서의 가능성을 알아보기 위해서 익모초 추출물의 각 용매분획별

항산화 활성, 항노화 활성 및 항균 효과를 측정하였다.

2. 실험방법

2.1 시약 및 기기

사용한 기기로는 감압농축기(NVC-2100, Eyela, Japan), UV-VIS spectrophotometer (Gensys 10S, Thermo, USA), ELISA reader (Sunrise, Tecan, Switzerland), Incubator (SLI-700, Eyela, Japan), Shaker (Titramax 100, Heidolph, Germany) 등을 사용하였다.

사용한 시약은 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, nitrotetrazolium blue chloride, xathine sodium salt, xanthine oxidase from bovine milk, elastase from porcine pancreas, tyrosinase, L-tyrosine, N-succinyl-$(ala)_3$-p-nitroanilide, tannic acid, Folin-Ciocalteu's reagent, quercetin, aluminum nitrate nonahydrate 등은 Sigma Aldrich (USA)사 제품을 사용하였으며 그 외 실험에 사용된 모든 시약은 일급 및 특급시약을 구입하여 사용하였다.

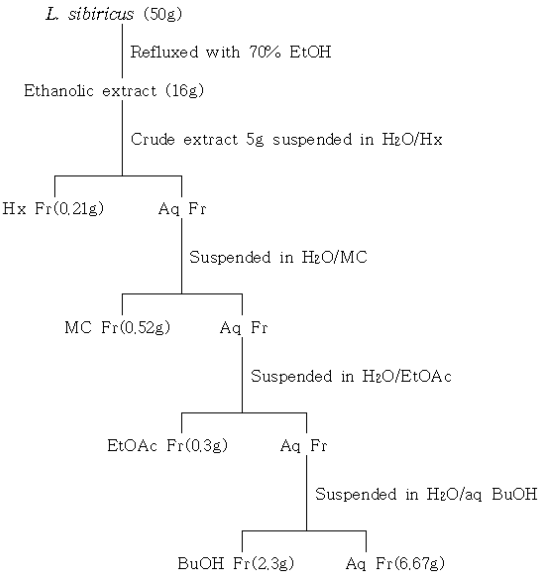
2.2 익모초 추출물의 제조 및 분획

2.2.1 익모초 추출

익모초의 잎과 줄기를 말려 곱게 간 가루 50 g을 70%(v/v) 에탄올 수용액으로 3시간씩 3회 환류추출 후 냉침하여 와트만(Whatman) 여과지로 여과하고 여과된 추출물을 50 ℃ 이하에서 감압농축 및 동결건조하여 익모초 에탄올 추출물(32 g)을 제조하였다.

2.2.2 익모초 추출물 분획

제조된 에탄올 추출물의 일부(5 g)를 물에 분산시킨 후 Hexane 500 ㎖로 분배 추출하여 hexane (Hx) 분획을 얻고, 포화 NaCl 용액으로 back washing하고, 무수 Na_2SO_4로 탈수한 후, 감압 농축하여 0.21 g의 분획을 얻었다. 남은 물층에 대하여 dichloromethane (MC)을 이용하여 Hx 분획과 같은 방법으로 탈수, 농축하여 0.52 g의 분획을 얻었다. 남은 물층에 대하여 etylacetate (EtOAc)를 이용하여 Hx 분획과 같은 방법으로 탈수, 농축하여 0.3 g의 분획을 얻었다. 남은 물층에 대하여 수포화 부탄올(aq BuOH)을 이용하여 Hx 분획과 같은 방법으로 탈수, 농축하여 2.3 g의 분획을 얻었다. 남은 물층을 농축하여 6.67 g의 분획을 얻었다[그림 1]. 각각의 건조 분획을 DMSO에 녹여 농도를 조정한 다음 시료로 사용하였다.



▶▶ 그림 1. Procedure for extraction and fractionation of *L. sibiricus*

2.3 유효성분 확인

2.3.1 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법[10]으로 측정하였으며, 적당하게 희석된 시료 1 ㎖에 95% ethanol 1 ㎖와 증류수 5 ㎖를 첨가하고 1 N Folin-Ciocalteu's reagent 0.5 ㎖를 넣어 잘 섞어 주었다. 5분간 방치한 후, 10% Na_2CO_3 1 ㎖를 가한 후, 725 nm에서 1시간 이내에 흡광도를 측정하여 tannic acid를 이용하여 미리 작성된 검량선으로부터 양을 환산하였다. 이 때 검량선은 tannic acid 표준품 10 ㎎을 ethanol 5 ㎖에 용해시켜 표준 원액을 제조한 다음 적당히 희석시켜 사용하였다.

2.3.2 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등[11]의 방법에 의해 측정하였다. 각 시료 100 ㎕를 취하여 10% 질산 알루미늄(aluminum nitrate)와 1 ㎛M 초산 칼륨(potassium acetate)을 함유하는 80% 에탄올 4.3 ㎖에 혼합하여 실온에서 40분 정치한 뒤 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 이용하여 작성한 검량선으로부터 양을 환산하였다.

2.4 항산화 효과 측정

2.4.1 DPPH radical 소거활성 측정

DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 소거활성 측정은 Blois의 방법[12]을 변형하여 실시하였다. 각 농도별로 조제한 시료 20 ㎕와 0.1 mM DPPH 용액 180 ㎕를 혼합한 후 20분 동안 상온에서 반응시켰다. 그 후 ELISA reader를 사용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 DPPH radical 소거활성을 백분율(%)로 나타내었다.

2.4.2 Superoxide anion radical 소거활성 측정

Nishikimi의 방법[13]을 변형하여 3 mM xathine과 0.6 mM NBT 용액, 15 mM Na_2-EDTA 용액, 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4)를 혼합하여 시료 30 ㎕를 첨가하고 0.1U xanthine oxidase를 50 ㎕ 가하여 5분간 shaking 한 후, 배양기에서 37 ℃로 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 ELISA reader를 사용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 superoxide anion radical 소거활성을 백분율(%)로 나타내었다.

2.5 항균효과 측정

익모초 추출물과 분획물의 항균효과는 일반적인 병원성 미생물 4종 *Candida albican*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*를 대상으로 paper disc method [14]로 측정하였다. 각 균주 1 백금이를 취하여 10 ㎖의 broth에 접종하고 37 ℃에서 24~48시간 배양하여 활성화시킨 후 활성액과 broth를 섞어 농도가 약 10^5~10^6 CFU/㎖ 가량 되도록 균액을 만들었다. 이 균액을 만들어 둔 agar 배지에 접종한 후 spreader를 이용하여 균일하게 도말하였다. 균액이 마르는 사이 멸균된 paper disc (6 mm)에 추출물을 농도별로 20 ㎕씩 올려 휘발시킨 후 plate 위에 놓고 24~48시간동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 disc 주위의 clear zone의 직경(mm)을 생육저해환으로서 비교하였다[15].

2.6 항노화 효과 측정

2.6.1 미백활성 측정

익모초 추출물의 미백활성을 측정하기 위하여 티로시나제의 작용결과 생성되는 DOPAchrome을 비색법으로 측정하여 티로시나제 저해활성 여부를 측정하였다[16]. 0.1 M sodium phosphate buffer와 농도별 익모초 추출물 20 ㎕를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시켰다. 반응액에 티로시나제 (1,100 unit/㎖) 10 ㎕와 1.5 mM tyrosine 50 ㎕를 혼합하여 37 ℃에서 10분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 ELISA reader를 사용하여 492 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 추출물을 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 티로시나제 저해 활성을 산출하였다.

2.6.2 엘라스타제 저해 활성 측정

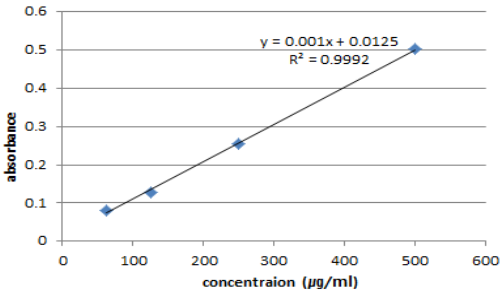
엘라스타제 저해활성은 James 등의 방법[17]을 이용하여 측정하였다. 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8)와 농도별 시료 30 ㎕, 1 mM N-succinyl-$(Ala)_3$-p-nitroanilide 30 ㎕를 혼합한 후, 0.11 U 엘라스타제 20 ㎕를 가하여 배양기에서 37 ℃로 20분 동안 반응시켰다. 반응 후 ELISA reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였고 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 엘라스타제 저해 활성을 백분율(%)로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1 유효성분 확인

3.3.1 총 폴리페놀 함량 측정 결과

폴리페놀이란 녹색식물이 광합성 작용을 할 때 새성된 탄수화물의 일부가 변화한 2차 대사산물로 식물계에 8,000여 개의 구조를 가진 성분으로 존재하며 페놀성 화합물이라고도 한다. 분자 내 페놀성 수산기가 효소 단백질과 같은 거대 분자들과 결합하는 성질이 있기 때문에 항산화 작용, 항암 및 콜레스테롤 저하작용 등의 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다[18]. 총 폴리페놀 함량을 측정하기 위하여 지표물질로서 tannic acid를 6.25~500 ppm 농도로 하여 검량선을 작성한 결과 그림 2와 같이 양호한 직선성(R^2 =0.9992)을 나타내었다.



▶▶ 그림 2. Calibration curve of tannic acid

상기 검량선을 이용하여 익모초 추출물과 용매별 분획내의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과를 표 1에 나타내었다.

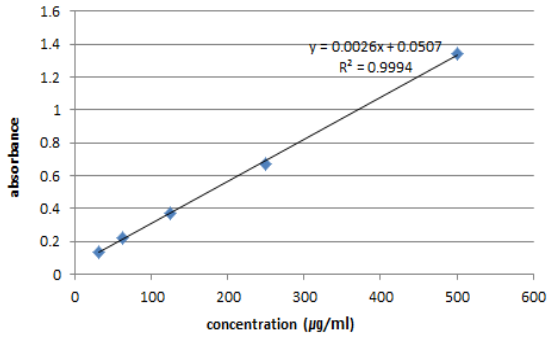
표 1. Total polyphenol contents of solvent fraction from *L. sibiricus*

Fraction	Total polyphenol (㎍/㎖)
EtOH	68.50 ± 0.42
Hx	54.56 ± 0.09
MC	240.19 ± 0.45
EtOAc	201.32 ± 0.40
BuOH	69.42 ± 0.68
DW	44.36 ± 0.36

그 결과 물 분획을 제외한 모든 시료들에서 50 ㎍/㎖이상의 폴리페놀이 함유된 것으로 나타났으며, 특히, MC 분획과 EtOAc 분획에서는 200 ㎍/㎖이상으로 폴리페놀이 함량이 가장 높은 것으로 나타났다.

3.3.2 총 플라보노이드 함량 측정 결과

플라보노이드는 항균, 항암 및 항염증 활성 등이 보고되어 있다[19]. 총 플라보이드 함량을 측정하기 위하여 지표물질로서 quercetin을 6.25~500 ppm 농도로 하여 검량선을 작성한 결과 그림 3과 같이 양호한 직선성(R^2 =0.9994)을 나타내었다.



▶▶ 그림 3. Calibration curve of quercetin

상기 검량선을 이용하여 익모초 추출물과 용매별 분획내의 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2. Total flavonoid contents of solvent fraction from *L. sibiricus*

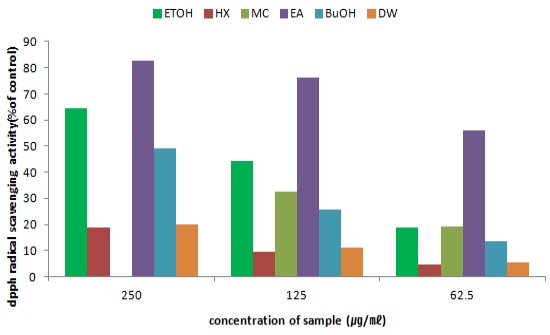
Fraction	Total flavonoid (㎍/㎖)
EtOH	17.42 ± 0.01
Hx	30.69 ± 0.01
MC	65.16 ± 0.01
EtOAc	60.69 ± 0.01
BuOH	8.96 ± 0.01
DW	1.08 ± 0.01

그 결과 물 분획과 부탄올 분획을 제외한 모든 시료들에서 15 ㎍/㎖이상의 플라보노이드가 함유된 것으로 나타났으며, 특히, MC 분획과 EtOAc 분획에서는 60 ㎍/㎖이상으로 플라보노이드 함량이 가장 높은 것으로 나타났다.

3.2 항산화 효과

3.2.1 DPPH radical 소거효과

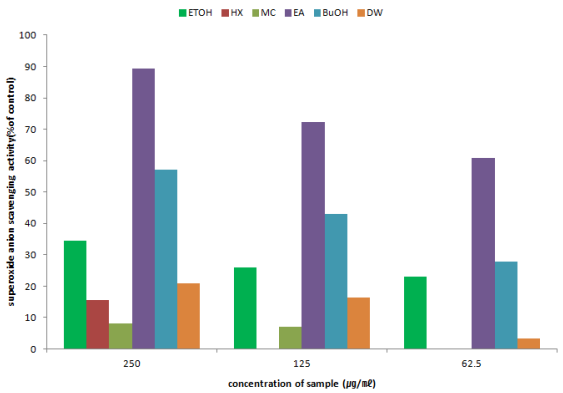
DPPH는 자유 라디칼의 안정된 모델로서 반응 중 DPPH radical의 감소는 자유 라디칼의 소거반응이 진행됨을 알 수 있고, 지질과산화의 초기반응의 억제정도를 예측할 수 있기 때문에 시료의 항산화 효과를 측정할 때 DPPH radical 소거능 측정법이 많이 이용된다[20]. 익모초 추출물 및 용매별 분획의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과 투여 농도 의존적으로 DPPH radical 소거작용을 나타내었다[그림 4]. 특히 EtOAc 분획의 경우 250 ppm에서 82.64%, 125 ppm에서 76.23%, 62.5 ppm에서 56.11%의 저해활성을 나타내어 모든 시료들 중에서 가장 높은 DPPH radical 소거활성을 보였다. 시료들의 DPPH radical 소거율은 EtOAc 분획 > EtOH 분획 > BuOH 분획 > Hx 분획, MC 분획, 물 분획 순으로 나타났다.



▶▶ 그림 4. Effect of solvent fraction from *L. sibiricus* on DPPH radical scavenging activity

3.2.2 Superoxide anion radical 소거효과

Superoxide anion racdical 저해작용은 xanthine oxidase에 의해 생성된 superoxide anion radical이 사용된 시료에 의해 제거된 비율을 측정하여 항산화 효과를 평가하는 방법으로 알려져 있다[21]. 익모초 추출물 및 용매별 분획의 superoxide anion radical 소거활성을 측정한 결과 투여농도 의존적으로 superoxide anion radical 소거작용을 나타내었다[그림 5]. 특히 EtOAc 분획의 경우 250 ppm에서 89.23%, 125 ppm에서 72.16%, 62.5 ppm에서 60.97%의 저해활성을 나타내어 모든 시료들 중에서 가장 높은 superoxide anion radical 소거활성을 보였다. 시료들의 superoxide anion radical 소거율은 EtOAc 분획 > BuOH 분획 > EtOH 분획 > 물 분획> Hx 분획, MC 분획 순으로 나타났다.



▶▶ 그림 5. Effect of solvent fraction from *L. sibiricus* on superoxide anion radical scavenging activity

3.3 항균 효과

익모초 추출물과 용매별 분획의 항균효과를 알아보기 위하여 병원성 미생물 4종(*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albican*)에 대해 paper disc method를 사용하여 항균효과를 측정하여 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3에 나타난 바와 같이 모든 시료들이 *E. coli*에는 항균효과를 나타내었으며, 특히 EtOH과 BuOH 분획에서 가장 높은 항균효과를 보였다(9~11 mm).

*C. albican*에는 Hx 분획만이 효과를 나타내었으며(7~9 mm). *S. aureus*와 *P. aeruginosa*에는 모든 분획들이 항균효과가 없는 것으로 나타났다.

표 3. Antibacterial activity of solvent fraction from *L. sibiricus*

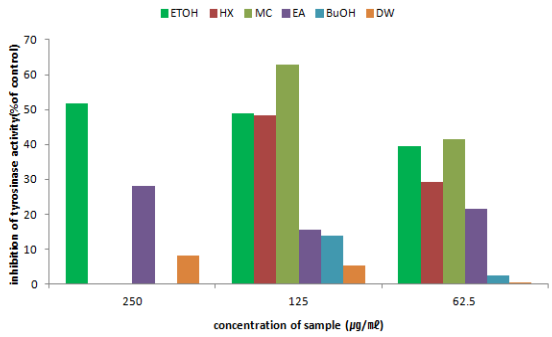
Fraction	Diameter of clear zone			
	E. coli	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*C. albican*
EtOH	+++	-	-	-
Hx	++	-	-	++
MC	+	-	-	-
EtOAc	++	-	-	-
BuOH	+++	-	-	-
DW	+	-	-	-

- sign means no inhibition (6 mm), + sign means very slight inhibition (6~7 mm), ++ sign means moderate inhibition (7~9 mm), +++ sign means heavy inhibition (9~11 mm)

3.4 항노화 효과

3.4.1 티로시나제 저해 효과

티로시나제는 tyrosine을 DOPA로의 전환에 관여할 뿐만 아니라 DOPA를 DOPAquinone으로 전환시킴으로서 적색의 melanin 색소를 생성하는 반응에 관여하는 주요 효소 중 하나로 알려져 있다[22]. 익모초 추출물 및 용매별 분획에 대한 티로시나제 활성 저해효과를 tyrosine을 기질로 이용하여 측정하였으며, 그 결과를 그림 6에 나타내었다. 용매분획별로 티로시나제 저해활성을 비교한 결과 MC 분획 > EtOH 추출물 > Hx 분획 > EtOAc 분획, BuOH 분획, 물 분획 순으로 나타났으며, 특히 MC 분획의 경우 125 ppm에서 62.8%, 62.5 ppm에서 41.4%의 높은 티로시나제 저해활성을 나타내었다.



▶▶ 그림 6. Inhibitory effect of solvent fraction from *L. sibiricus* on tyrosinase activity

3.4.2 엘라스타제 저해 효과

엘라스타제는 피부조직의 탄력성을 유지하는데 필요한 가교결합 형성에 관여하는 엘라스틴을 가수분해하는 효소로 알려져 있다[23]. 익모초 추출물과 용배별 분획의 엘라스타제 저해효과는 생성되는 p-nitroanilide의 양을

측정하여 평가하였다. 시료를 넣지 않은 군을 대조군으로 하여 시료를 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm으로 희석하여 엘라스타제 저해 효과를 측정한 결과 실험군 중 대부분이 불투명해져 흡광도를 측정하는데 어려움이 있었다. 6개의 분획 모두 엘라스타제 저해 효과가 높지 않은 것으로 나타났다.

4. 결론

본 연구에서는 익모초를 70% 에탄올로 추출한 후 극성별 유기용매로 분획하여 유효성분 확인(총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량), 항균 효과, 항산화 효과, 항노화 효과 등을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

익모초 추출물 및 용매별 분획의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정한 결과 MC 분획과 EtOAc 분획에서 각각 200 ㎍/㎖ 이상, 60 ㎍/㎖ 이상으로 가장 높게 나타났다.

DPPH radical과 superoxide anion 소거 활성을 통해 항산화 효과를 측정한 결과 익모초 추출물 및 용매별 분획 모두 농도 의존적인 경향을 나타내었다. 특히, EtOAc 분획의 경우 250 ppm에서 DPPH radical과 superoxide radical을 80% 이상 소거하는 우수한 항산화 효과를 나타내었다.

항균 효과 측정 결과 *C. albican*에서는 Hx 분획만이 항균 효과를 나타내었으나 E. coli에 대해서는 익모초 추출물 및 용매별 분획들이 모두 항균 효과를 나타내었다. 특히, EtOH 분획과 BuOH 분획에서 가장 큰 항균 효과를 가지는 것으로 나타났다.

티로시나제 저해 효과를 측정한 결과 MC 분획 > EtOH 추출물 > Hx 분획 > EtOAc 분획, BuOH 분획, 물 분획 순으로 저해활성이 나타났으며, 특히, MC 분획의 경우 125 ppm에서 60% 정도의 높은 저해활성을 나타내었다.

엘라스타제 저해 효과를 측정한 결과 측정한 모든 시료에서 활성이 나타나지 않았다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 항균 효과는 BuOH 분획에서, 항산화 효과는 EtOAc 분획에서, 미백 효과는 MC 분획에서 가장 우수한 효과를 보이므로 향후 용매별 분획에 대한 분리 및 정제 등의 추가적인 연구를 통해 기능성 화장품 소재로 개발 가능성이 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

[1] Kim, H.S., Yoon, S.H., The effect of Leonuri herba extracts on the benzopyrene-induced hepatotoxicity in Rats, J Korean Soc Hygienic Sciences, 5(2), 93-100, 1999

[2] Jo, Y.G., The development of anti-wrinkle cosmeceutical ingredients from Leonuri herba extrat, 중앙대학교 대학원 석사학위논문, 2011

[3] Kim, J.Y., Lee, Y.H., Kim, J.Y., Roh, B.K., Study of antioxidation action of Lenonuri herba extract, J Soc Cosmet Scientists Korea, 31(2), 189-196, 2005

[4] Shin, S.H., Studies on active principles of *Leonurus sibiricus*, Kor J Pharmacogn, 15(2), 104-107, 1984

[5] Lee, M.Y., Sheo, H.J., Effect of *Leonurus sibiricus* green juice on gastric secretion of Rats, J Korean Soc Food Nutr, 15(4), 47-50, 1986

[6] 과학백과사전출판사, 약초의 성분과 이용, 일월서각, Seoul, 912, 1999

[7] An, B.Y., Lee, G.S., Maeng, I.K., Song, K.S., Choi, D.S., Desmutagenic Effect of *Leonurus sibiricus* L. to aflatoxin B1 in Salmonella mutation assay, Korean J Food & Nutr, 9(3), 294-298, 1996

[8] Hong, S.S., Hwang, J.S., Lee, S.A., Hwang, B.Y., Ha, K.W., Ze, K.R., Seung, R.S., Ro, J.S., Lee, K.S., Isolation and quantitative analysis of Leonurine from Leonuri herba, Kor J Pharmacogn, 32(4), 322-326, 2001

[9] Lee, S.W., Antioxidative compounds and standardization of Leonuri herba, 중앙대학교 대학원 석사학위논문, 2006

[10] Folin, A. D., Denis, W., A colorimetric method for the determination of phenols and phenol derivatives in urine, J Biol Chem, 22, 305-308, 1915

[11] Moreno, M. I., Isla, M. I., Sampeiettro, A. R., Vatuone, M. A., Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis form several regions of Argentina, J Enthnopharmacol, 71, 109-114, 2000

[12] Blois M.S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 26, 1199-1203, 1958

[13] Nishikimi, M., Oxidation of ascorbic acid with superoxide anion generated by the xanthine-xanthine oxidase system. Biochem Biophy Res Commun, 63, 463-468, 1975

[14] Conner, D.E., Beuchat, L.R., Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts, J Food Sci, 49(2), 429-434, 1984

[15] Kwon, M.K., A study on the antimicrobial activities of the extract of *Camellia japonica* L. leaves, 성신여자대학교 대학원 석사학위논문, 2002

[16] Jung, S.W., Lee, N.K., Kim, S.J., Han, D.S., Screening of tyrosinase inhibitor from plants, Kor. J. Food Sci. Technol, 27, 891-896. (1995)
[17] James A.E.K., Timothy D.W., Gordon, L., Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor, Biochemistry, 35, 9090-9096, 1996
[18] Jeong, H.J., Park, S.B., Kim, S., Kim, H.K., Total polyphenol content and antioxidative activity of wild grape (*Vitis coignetiae*) extracts depending on ethanol concentrations, J Korean soc Food Sci Nutr, 36, 1491-1496, 2007
[19] Cha, J.Y., Kim, s.Y., Jeong, S.J., Cho, Y.S., Effects of hespertin and naringenin on lipid concentration in oratic acid treated mice, J Life Sci, 9, 389-394, 1999
[20] Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H., Kawakishi, S., The contribution of plant food antioxidants to human health trends, Food Sci Technol, 6, 75-82, 1995.
[21] Kuppusamy, P., Zweier, J. L., Characterization of free radical generation by xanthine oxidase, J Biol Chem, 264, 9880-9884, 1989
[22] Jimenez, M., Kameyama, K., Maloy, W.L., Tomita, Y., Hearing, V.J., Mammalian tyrosinase: biosynthesis, processing, and modulation by melanocyte-stimulating hormone, Proc Natl Acad Sci USA, 85, 3830-3834, 1988
[23] Kim, J.H., Identification of compounds with elastase inhibition and DPPH radical scavenging activities from *Callistemon lanceolatus*, 제주대학교 대학원 석사학위논문, 2010

저자소개

● 이 계 원(Gye-Won Lee)

- 1989년 2월 : 충남대학교 약학대학 약학사
- 1992년 2월 : 충남대학교 약학대학 약학석사 (약제학)
- 1995년 8월 : 충남대학교 약학대학 약학박사 (약제학)
- 2002년 3월 ~ 현재 : 건양대학교 제약공학과 부교수

<관심분야> : 약물 전달 시스템(DDS), NLC, 약물의 가용화 및 나노제제 기술, Method validation development

● 여 진 숙(Jin-Suk Yeo)

- 2012년 3월 : 건양대학교 제약생명공학과 입학
- 2013년 3월 ~ 현재 : 피부생명공학실험실 동아리 활동

<관심분야> : 천연물의 생리활성

● 유 경 화(Kyung-Hwa Yu)

- 2012년 3월 : 건양대학교 제약생명공학과 입학
- 2013년 3월 ~ 현재 : 피부생명공학실험실 동아리 활동

<관심분야> : 천연물의 생리활성

● 이 지 혜(Ji-Hye Lee)

- 2012년 3월 : 건양대학교 제약생명공학과 입학
- 2013년 3월 ~ 현재 : 피부생명공학실험실 동아리 활동

<관심분야> : 천연물의 생리활성

● 조 영 호(Young-Ho Cho)

- 1991년 2월 : 대구대학교 공과대학 공학사 (생물공학)
- 1993년 2월 : 건국대학교 축산대학 농학석사 (생화학)
- 2004년 2월 : 대구대학교 공과대학 공학박사 (생물공학)
- 2007년 3월 ~ 현재 : 건양대학교 제약공학과 부교수

<관심분야> : 기능성 화장품 소재 및 화장품 개발, 피부 면역 증진 소재 및 제형 개발, 난용성 생리활성 물질의 가용화 기술 및 제제 개발